

Oral presentation | CS Code-sharing session : 【CS.14】 Code-sharing Session of 12.6 & 12.7

📅 Wed. Sep 20, 2023 9:00 AM - 12:00 PM JST | Wed. Sep 20, 2023 12:00 AM - 3:00 AM UTC | 🏠 D901 (TKP)

**[20a-D901-1~11] CS.14 Code-sharing Session of 12.6 & 12.7**

Ayumi Hirano(Tohoku Univ.), Yusuke Arima(Kyusyu Univ.)

9:00 AM - 9:15 AM JST | 12:00 AM - 12:15 AM UTC

[20a-D901-1] *Candida* Mannan in saliva detected by plasmon-field enhanced fluorescence imaging

○Ryuto Noumi<sup>1</sup>, Masaya Yako<sup>1</sup>, Yasunori Nawa<sup>1</sup>, Keiko Tawa<sup>1</sup>, Hiroshi Kurita<sup>2</sup> (1.Kwansei Gakuin Univ., 2.ShinShu Univ.)

9:15 AM - 9:30 AM JST | 12:15 AM - 12:30 AM UTC

[20a-D901-2] Post-labeling fluorescence microscopy of single exosomes captured by a plasmonic chip

○Makoto Tokami<sup>1</sup>, Yasunori Nawa<sup>1</sup>, Keiko Tawa<sup>1</sup> (1.Kwansei Gakuin Univ.)

◆ English Presentation

9:30 AM - 9:45 AM JST | 12:30 AM - 12:45 AM UTC

[20a-D901-3] Graphene Surface Acoustic Wave Gas Sensor for Effective Detection of Acetone down to Ppt Levels in the Air Atmosphere

○Haolong Zhou<sup>1</sup>, Sankar Ganesh Ramaraj<sup>1</sup>, Hiroyasu Yamahara<sup>1</sup>, Hitoshi Tabata<sup>1</sup> (1.Univ. of Tokyo)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

9:45 AM - 10:00 AM JST | 12:45 AM - 1:00 AM UTC

[20a-D901-4] Electrical properties of taste sensor with positively charged lipid membranes composed of amine and ammonium salts

○Kentaro Watanabe<sup>1</sup>, Tatsukichi Watanabe<sup>1</sup>, Shunsuke Kimura<sup>2</sup>, Hidekazu Ikezaki<sup>3</sup>, Kiyoshi Toko<sup>2</sup> (1.Grad. Sch. ISEE. Kyushu Univ., 2.R&D Five-Sense Devices, Kyushu Univ., 3.Intelligent Sensor Technology, Inc.)

◆ English Presentation

10:00 AM - 10:15 AM JST | 1:00 AM - 1:15 AM UTC

[20a-D901-5] The utilization of piezo-impedance properties of porous MWCNTs-PDMS nanocomposite for remote sensing via wireless power transmission technology

○Saman Azhari<sup>1</sup>, Kouki Kimizuka<sup>2</sup>, Gabor Mehes<sup>1</sup>, Yuki Usami<sup>2</sup>, Yasuhiko Hayashi<sup>3</sup>, Hirofumi Tanaka<sup>2</sup>, Takeo Miyake<sup>1</sup> (1.Waseda University Graduate School of Information, Production and Systems, 2.Kyushu Institute of Technology, 3.Okayama University)

◆ Highlighted Presentation

10:30 AM - 10:45 AM JST | 1:30 AM - 1:45 AM UTC

[20a-D901-6] [Young Scientist Presentation Award Speech] Toward point-of-care testing with SATORI

○Tatsuya Iida<sup>1</sup>, Jun Ando<sup>1</sup>, Hajime Shinoda<sup>1</sup>, Rikiya Watanabe<sup>1</sup> (1.RIKEN CPR)

10:45 AM - 11:00 AM JST | 1:45 AM - 2:00 AM UTC

[20a-D901-7] Highly sensitive protein sensing by protein-imprinted polymer nanogels

○Hirobumi Sunayama<sup>1</sup>, Chehasan Cheubong<sup>2</sup>, Eri Takano<sup>2</sup>, Toshifumi Takeuchi<sup>3,4</sup> (1.Grad. Sch. of Med., Kobe Univ., 2.Grad. Sch. of Eng., Kobe Univ., 3.Innovation Commercialization Division, Kobe Univ., 4.AIST PhotoBioOIL)

---

◆ English Presentation

11:00 AM - 11:15 AM JST | 2:00 AM - 2:15 AM UTC

[20a-D901-8] Evaluation of PEDOT:bromocresol purple electrochemical electrodes for determination of human serum albumin by dye-binding interaction

○(PC)Alex ChiWei Tseng<sup>1</sup>, Toshiya Sakata<sup>1</sup> (1.Univ. of Tokyo)

---

11:15 AM - 11:30 AM JST | 2:15 AM - 2:30 AM UTC

[20a-D901-9] Graphene Biosensor Coated with a Gas-Permeable Membrane

○Takao Ono<sup>1</sup>, Miho Kannaka<sup>1</sup>, Yasushi Kanai<sup>1,2</sup>, Naruto Miyakawa<sup>3</sup>, Ayumi Shinagawa<sup>3</sup>, Shin-ichi Nakakita<sup>4</sup>, Yohei Watanabe<sup>5</sup>, Shota Ushiba<sup>3</sup>, Shinsuke Tani<sup>3</sup>, Yasuo Suzuki<sup>6</sup>, Masahiko Kimura<sup>3</sup>, Daichi Chiba<sup>1,2,7,8</sup>, Kazuhiko Matsumoto<sup>1</sup> (1.SANKEN, Osaka Univ., 2.OTRI, Osaka Univ., 3.Murata Manufacturing Co., Ltd., 4.Kagawa Univ., 5.Kyoto Pref. Univ. Med., 6.Univ. Shizuoka, 7.CSRN, Osaka Univ., 8.SRIS, Tohoku Univ.)

---

11:30 AM - 11:45 AM JST | 2:30 AM - 2:45 AM UTC

[20a-D901-10] Visualization of autonomic nervous system activity during sleep by time-series correlation analysis of glucose fluctuation and heart rate variability

○Taira Kajisa<sup>1</sup>, Toshiya Kuroi<sup>2</sup>, Hiroyuki Hara<sup>2</sup> (1.Toyo Univ., 2.Hakuju Institute for Health Science)

---

11:45 AM - 12:00 PM JST | 2:45 AM - 3:00 AM UTC

[20a-D901-11] Fully wireless electrochemiluminescent biosensor using a smartphone and wireless power transfer

○Eiichi Tamiya<sup>1,2</sup>, Shuto Osaki<sup>1</sup>, Hidenori Nagai<sup>1</sup> (1.AIST PhotoBIO OIL, 2.Osaka Univ. SANKEN)

# プラズモン増強蛍光イメージングによる唾液中のカンジダマンナン検出

## *Candida Mannan in saliva detected by plasmon-field enhanced fluorescence imaging*

関西学院大 院理工<sup>1</sup>, 信州大 医<sup>2</sup> °能見 隆登<sup>1</sup>, 八子 将也<sup>1</sup>, 名和 靖矩<sup>1</sup>, 田和 圭子<sup>1</sup>,  
栗田 浩<sup>2</sup>

Kwansei Gakuin Univ.<sup>1</sup>, Shinshu Univ.<sup>2</sup>, °Ryuto Noumi<sup>1</sup>, Masaya Yako<sup>1</sup>, Yasunori Nawa<sup>1</sup>,

Keiko Tawa<sup>1</sup>, and Hiroshi Kurita<sup>2</sup>

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

免疫力を迅速かつ定量的に評価することは、医療現場や自宅での体調管理に役立つ。信州大の栗田らによって、口腔カンジダ菌に含まれるカンジダマンナン (CM) を免疫力マーカーに利用できることが示された。先行研究では、ホールアレイ型プラズモニクチップと蛍光顕微鏡イメージングにより、CM 標準溶液の定量評価を行うことができた。また、角度走査型プラズモン増強蛍光測定では、唾液中の CM を定量評価することもできた<sup>1</sup>。そこで本研究では、蛍光顕微鏡イメージングにより、唾液中の CM の計測に取り組んだ。プラズモニクチップにおける周期構造のピッチの選択によって、入射 (励起) 波長と検出 (発光) 波長で 0 度付近の低角に共鳴角が表れるよう調整し、励起増強と発光増強効果を得て、高感度検出を目指した。

本研究で使用したプラズモニクチップは、ピッチ 495 nm×475 nm の二次元ホールアレイで、銀薄膜と SiO<sub>2</sub> 膜を RF スパッタ法によってそれぞれ 80~100 nm, 20~30 nm で調製した。この表面をアミノ基修飾したプラズモニクチップに両末端がスクシイミドで修飾された PEG クロスリンカーの片末端を結合し、もう一方にカンジダマンナン捕捉抗体を結合させた。そこへカンジダマンナンを含む唾液検体 (CM を 0.67 ng/ml および 0.33 ng/ml 含有), 検出抗体, Alexa®647 標識二次抗体でサンドイッチイムノアッセイを構築した。正立落射蛍光顕微鏡で x4 の対物レンズと Cy5 蛍光フィルターを用いて蛍光像 (Fig. 1) を撮影し、パターン内外での蛍光強度を評価した。

プラズモニクチップでは、プラズモニクパターン上の蛍光はパターン外の平坦表面と比べて  $9.7 \pm 2.5$  倍の増強が見られた。各唾液検体について 10 回以上の計測の結果、平均値を求めると 0.67 ng/ml の試料では 0.33 ng/ml の試料より大きな蛍光強度が得られた。今後は唾液中の夾雑物による非特異吸着を減らすアッセイや、唾液の前処理について最適化し、より多くの唾液検体の計測を進めていきたい。

**謝辞** 光硬化性樹脂をご提供頂いた東洋合成工業に感謝申し上げます。

**参考文献** 1) M. Yako et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* **62**, SG1028 (2023).

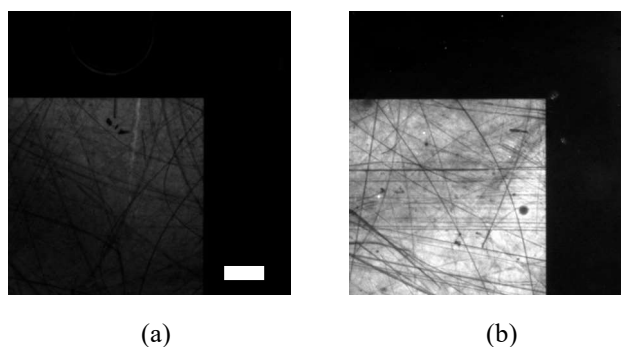


Fig.1 Fluorescence images for saliva samples prepared at CM solutions of (a) 0.33 ng/ml and (b) 0.67 ng/ml. Bar corresponds to 200  $\mu$ m.

## プラズモニクチップで捕捉された単一エキソソームの 後標識法による蛍光顕微鏡観察

### Post-labeling fluorescence microscopy of single exosomes captured by a plasmonic chip

関西学院大 院理工<sup>1</sup>, <sup>○</sup>富上 真<sup>1</sup>, 名和 靖矩<sup>1</sup>, 田和 圭子<sup>1</sup>

Kwansei Gakuin Univ.<sup>1</sup>, <sup>○</sup>Makoto Tokami<sup>1</sup>, Yasunori Nawa<sup>1</sup>, and Keiko Tawa<sup>1</sup>

E-mail: [ktawa@kwansei.ac.jp](mailto:ktawa@kwansei.ac.jp)

エキソソーム (Extracellular Vesicles: Evs) は mRNA や DNA、CD9 などの膜タンパク質を含む直径 100 nm 程の細胞外小胞体で、細胞間のコミュニケーションツールとして体液中に広く存在する。細胞から放出された Ev は、細胞の種類や環境によって組成が変化するため、病状の診断や予測に利用できる。より精度の高い診断を行うために単一 Ev を検出する必要があるが、 $\phi$  100 nm の Ev を通常の光学顕微鏡で観察することは困難である。そこで当研究室では、蛍光増強効果を持つプラズモニクチップを用いて、単一 Ev を輝点として観察してきた。先行研究では、蛍光標識抗体を結合した Ev (先標識法) をプラズモニクチップ上の捕捉界面で捕捉し、それを輝点として定量的に評価することを行ってきた。本研究では、単一 Ev のその場診断を目指して、Ev を捕捉界面で捕捉した後、蛍光標識抗体でキャップする後標識法を用いて、定量評価を行った。

プラズモニクチップは、ピッチ 480nm で直径 20  $\mu$ m の同心円構造 (Bull's eye) パターンがアレイ化した構造で、銀薄膜が膜厚 40 nm で成膜された。この表面にポリドーパミン膜を調製し、Protein G ( $5.0 \times 10^{-6}$  M, 10  $\mu$ L)、Anti-CD63 抗体 ( $3.33 \times 10^{-7}$  M, 10  $\mu$ L) を加え Ev 捕捉界面を調製した。そこに、ブロッキング剤のウシ血清アルブミン、Ev、Allophycocyan (APC) 標識-Anti-CD9 抗体 ( $3.5 \times 10^{-8}$  M, 10  $\mu$ L) を順に加えてアッセイを構築した。顕微鏡観察では、水銀ランプと EM-CCD カメラを搭載した正倒立蛍光顕微鏡を用い、光照射 (励起) に 40 $\times$  (倒立側)、発光検出に 100 $\times$  (正立側) の対物レンズを、正倒立両側に Cy5 フィルターユニットを用いて透過法で蛍光輝点の観察を行った。

Fig.1 に Ev を含まない参照溶液 (a) と 1400 fM に調製された Ev 溶液 (b) における蛍光像を示す。1400fM の Ev 溶液においては、参照溶液と比べ多数の輝点が確認された。事前に、同条件の顕微鏡観察

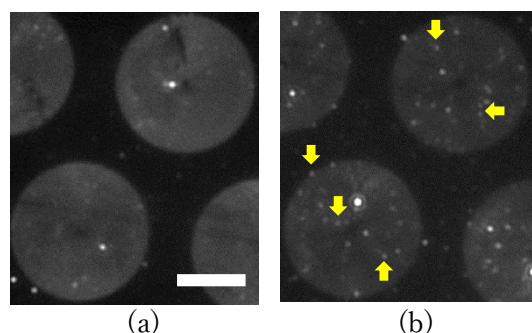


Fig. 1 Fluorescence images for Ev solutions prepared at (a) 0 fM and (b) 1400 fM. Scale bar corresponds to 10  $\mu$ m. Yellow arrows show bright spots assigned to single Evs.

で回折限界以下の単一ナノ粒子の輝点の平均半値幅 (FWHM) を 521 nm と評価したので、本実験で得られた輝点のうち、閾値 521 nm 以下を単一 Ev に帰属し、蛍光標識抗体の凝集体等と区別した。Bull's eye パターン 2 個あたり閾値以下の Ev に帰属された輝点は参照溶液では 0 個であったが、1400 fM の溶液では 5 個であることが確認できた。

**謝辞** 光硬化性樹脂を提供下さった東洋合成工業に感謝します。

## Graphene Surface Acoustic Wave Gas Sensor for Effective Detection of Acetone down to Ppt Levels in the Air Atmosphere

Univ. of Tokyo<sup>1</sup>, <sup>o</sup>(D)Haolong Zhou<sup>1</sup>, Sankar Ganesh Ramaraj<sup>1</sup>, Hiroyasu Yamahara<sup>1</sup>, Hitoshi Tabata<sup>1</sup>

E-mail: [zhouhaolong@g.ecc.u-tokyo.ac.jp](mailto:zhouhaolong@g.ecc.u-tokyo.ac.jp)

With the advent of modern urbanization, humanity has grappled with numerous health and environmental challenges, leading to a gradual reduction in human lifespan [1–2]. In order to enhance human longevity and well-being, there is a pressing need for a real-time health monitoring device. The surface acoustic wave (SAW) sensor has garnered considerable attention due to its superior thermal stability, lower phase noise compared to crystal resonators, exceptional quality, and temperature characteristics [3]. The SAW resonator operates based on surface phenomena, and any disturbance on the surface of the sensing layer (such as mass load, electrical load, elastic load) can significantly affect the propagation of sound waves, leading to changes in frequency, phase, and amplitude. Therefore, SAW sensors are exceedingly attractive for gas sensing applications.

In this study, we have successfully fabricated monolayer graphene surface acoustic wave gas sensors (G-SAW) utilizing love mode waves for the efficient detection of acetone gas molecules at parts per trillion (ppt) levels at room temperature.

Fig.1(a) illustrates the schematic image of the G-SAW sensor featuring a 3  $\mu\text{m}$  SiO<sub>2</sub> guiding layer. Additionally, Fig. 1(b) showcases the 3D-printed gas chamber utilized for gas sensing analysis, along with a printed circuit board (PCB) for measurement. The G-SAW sensor demonstrates exceptional sensitivity over a wide concentration range of acetone gas molecules (800 ppt - 100 ppm) in atmospheric conditions, as depicted in Fig. 1(c). Furthermore, Fig.1(d) exhibits the frequency shift curves of the G-SAW sensor towards varying concentrations of acetone gas molecules, displaying a linear relationship within the range of 800 ppt to 100 ppm. The G-SAW sensor exhibits exceptional sensitivity towards acetone gas molecules characterized by a high dipole moment (2.88D). This attribute induces a stronger electrostatic interaction with graphene, resulting in deformation and enhanced surface hardness. These results indicate that the elastic effect plays a major role in the high sensitivity of acetone gas molecules. This study offers a promising approach for diagnosing stages of diabetes within the human body.

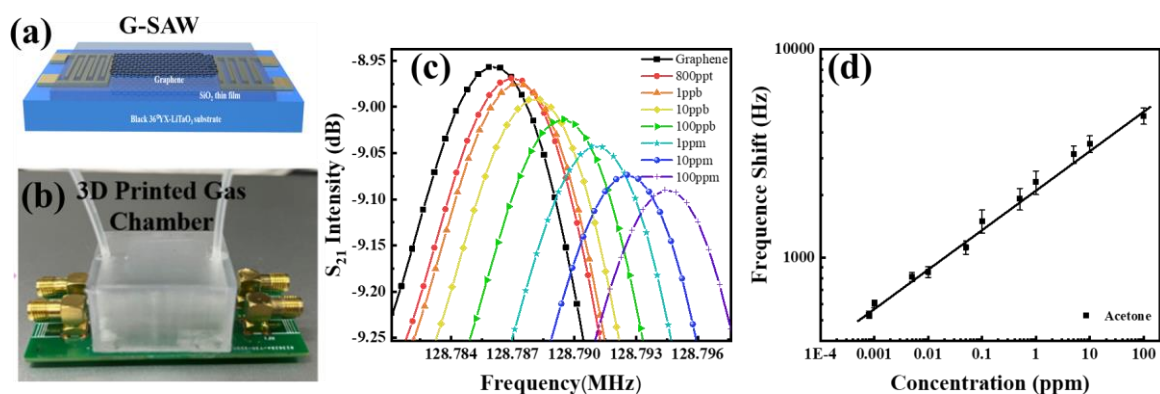


Fig.1 (a) Schematic diagram of SAW sensor with graphene. (b) 3D printed gas chamber with G-SAW device. (c) and (d) Gas sensing analysis of G-SAW sensor for acetone molecules

**Acknowledgements:** This research was supported by Institute for AI and Beyond for the University of Tokyo, JST, CREST Grant Number JPMJCR22O2, Japan, AMED under Grant Number JP22zf0127006, JSPS KAKENHI Grant Number JP20H05651, JP22K18804, JP23H04099.

**Reference:** [1] R.A. Potyrailo, et al., *Chem Rev.* 116 (2016) 11877–11923. [2] Z. Lou et al. *Mater. Sci. Eng. R Rep.* 140 (2020) 100523. [3] S. Sridevi. *Sens Actuators B Chem.* 223 (2016) 481–486.

## アミンやアンモニウム塩で構成される味覚センサ正荷電脂質膜の電気特性

### Electrical properties of taste sensor with positively charged lipid membranes

#### composed of amines and ammonium salts

九大シス情<sup>1</sup>, 九大五感応用デバイス研究開発センター<sup>2</sup>, (株)インテリジェントセンサーテクノロジー<sup>3</sup>

○渡邊 健太郎<sup>1</sup>, 渡辺 竜吉<sup>1</sup>, 木村 俊輔<sup>2</sup>, 池崎 秀和<sup>3</sup>, 都甲 潔<sup>2</sup>

Grad. Sch. ISEE, Kyushu Univ.<sup>1</sup>, R&D Five-Sense Devices, Kyushu Univ.<sup>2</sup>, Intelligent Sensor Technology, Inc.<sup>3</sup>

○Kentaro Watanabe<sup>1</sup>, Tatsukichi Watanabe<sup>1</sup>, Shunsuke Kimura<sup>2</sup>, Hidekazu Ikezaki<sup>3</sup>, Kiyoshi Toko<sup>2</sup>

E-mail: watanabe.kentaro.193@s.kyushu-u.ac.jp

食品の味を数値化する手法として味覚センサが活用されている。味覚センサの受容部には各味質に選択的な応答を示す脂質高分子膜が用いられており、呈味物質との静電相互作用及び疎水性相互作用による膜電位変化として出力する[1]。その際、野菜等に含まれる無味の  $\text{NO}_3^-$  イオン等のアニオン種への応答の抑制は重要であるが、これを実現するための体系的な電気化学的な研究はなされていなかった。

そこで本研究では、正荷電材料として荷電状態や疎水性が異なる、種々のアミンやアンモニウム塩を用いたセンサ膜を作製し、異なるアニオンを含む溶液における膜の電位変化特性を調査した。正荷電材料を、可塑剤としての dioctyl phenylphosphonate (DOPP)、支持材としての polyvinyl chloride (PVC) と共に混合することで脂質高分子膜を製膜し、センサ電極を構築した。センサ電極を異なるアニオンが溶解した水溶液に浸漬し、電位応答特性を調査した。塩化カリウム (30 mM) および酒石酸 (0.3 mM) が溶解した水溶液 (基準液) 中と、サンプル溶液中の電位差を相対値 (relative value) として出力した。

アンモニウム塩である tetradodecylammonium bromide (TDAB) を用いたセンサを、0.1 mM から 1000 mM の濃度のフッ化カリウム (KF) およびヨウ化カリウム (KI) 水溶液に浸漬した際の相対値を Fig. 1 に示す。KI 水溶液における相対値は、いずれの濃度においても KF 水溶液における相対値と比較して負であり、特に 100 mM, 1000 mM の溶液においては 300 mV の差異が生じた。これは、水和エネルギーが小さくストークス半径の小さい  $\text{I}^-$  イオンが、ストークス半径が大きい  $\text{F}^-$  イオンと比較して、TDAB 膜界面に強く静電相互作用するためであると考えられる。同様に, oleylamine (OAm) を用いたセンサを、KF 水溶液および KI 水溶液に浸漬した際の相対値を Fig. 2 に示す。TDAB を用いたセンサの場合と同様に、KI 水溶液における相対値は、KF 水溶液における相対値と比較していずれの濃度においても負であったが、この差は最大で 130 mV であり、TDAB を用いたセンサのように顕著な差異は生じなかった。したがって OAm 膜センサと  $\text{I}^-$  イオン間の静電相互作用は  $\text{F}^-$  イオンとの間に生じる静電相互作用に近く、すなわち OAm 膜のイオン選択性は低いといえる。これは OAm 膜の膜界面の荷電状態や水和状態に起因すると考えられる。以上の結果は、味覚センサによるアニオン種の識別可能性を示唆し、無味の妨害イオン存在下においても味を正確に評価する新規味覚センサの設計において重要な知見である。

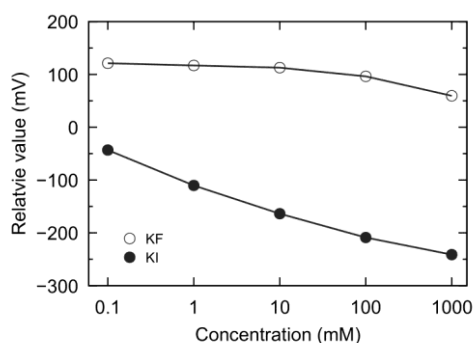


Fig. 1 Relative values of the sensor containing TDAB in KF and KI solutions.

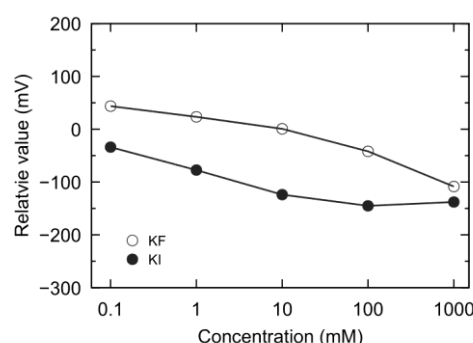


Fig. 2 Relative values of the sensor containing OAm in KF and KI solutions

本研究は JSPS 科研費 21H05006 の助成を受けたものです。

[1] Y. Tahara and K. Toko, Electric Tongues-A, Review, IEEE Sens. J, 13(8), 3001-3011, 2013

## The utilization of piezo-impedance properties of porous MWCNTs-PDMS nanocomposite for remote sensing via wireless power transmission technology

Saman Azhari<sup>1</sup>, Kouki Kimizuka<sup>2</sup>, Gábor Méhes<sup>1</sup>, Yuki Usami<sup>2</sup>, Yasuhiko Hayashi<sup>3</sup>, Hirofumi Tanaka<sup>2</sup>, Takeo Miyake<sup>1</sup>

Waseda University (IPS)<sup>1</sup>, Kyushu Institute of Technology<sup>2</sup>, Okayama University<sup>3</sup>

E-mail: saman@aoni.waseda.jp

The applications of wireless power transmission (WPT) technology have been advancing in the last couple of decades. Resonance inductive coupling (RIC) is one of the few approaches to such technology. During the RIC, the transmitter and receiver are tuned to resonate at a particular frequency for maximum power transfer efficiency in a short distance. As a result of the coupling between the transmitter and receiver, a property known as reflected impedance ( $Z_r$ ) arises that directly influences the current flow in the transmitter circuit. By manipulating the receiver impedance and the resultant  $Z_r$ , we are able to monitor the changes in the receiver via the transmitter circuit.

Here we demonstrate a simple approach to monitor and measure the changes in the receiver circuit via the transmitter using a full-bridge rectifier and a resistor-capacitor (RC) filter (Figure 1a). The porous multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs)-PDMS nanocomposite fabricated via the sacrificial template technique used in this work demonstrated impedance variation due to applied force (Figure 1b). By parallelly connecting the nanocomposite sensor to the receiver antenna, we manipulate the reflected impedance resulting in changes in the current flow through the transmitter circuit. We were able to successfully monitor the applied force on the sensor remotely (Figure 1c).

Furthermore, we confirmed the stability of piezo-responsive porous MWCNTs-PDMS nanocomposite chemically bonded to the silver electrode using a silane coupling agent with 5.8 % mechanical hysteresis. In addition, we demonstrated the proposed setup's performance with a strain sensitivity of 24.73 and a pressure sensitivity of 0.98. This approach may open a path for disposable medical and other haptic-based applications that do not require complex communication protocols.

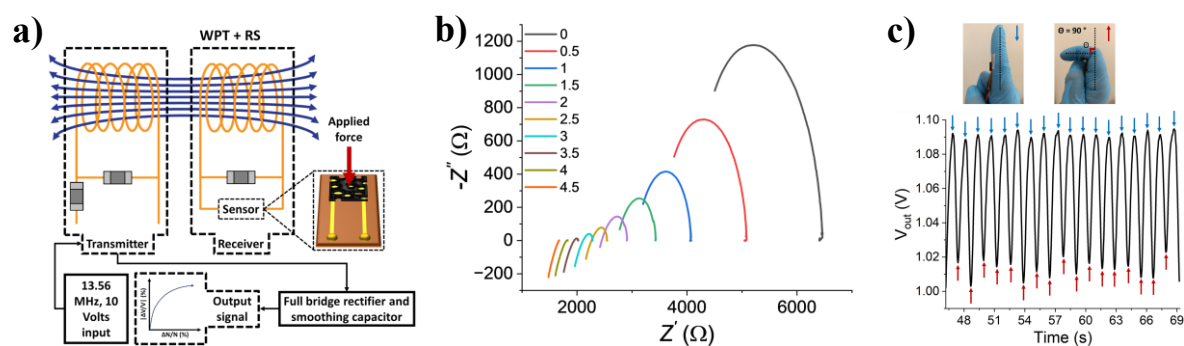


Figure 1. a) The concept figure of the proposed system; b) the Nyquist plot of the sensor corresponding to applied force and c) the output voltage of the proposed system for a 90° pip joint bending.

S. Azhari et al., IEEE Sensors Journal, vol. 23, no. 7, pp. 7902-7909, 1 Apr 11, 2023, doi: 10.1109/JSEN.2023.3248021.

# SATORI 法による臨床現場即時検査の実現に向けて

## Toward point-of-care testing with SATORI

理化学研究所 開拓研究本部, °飯田 龍也, 安藤 潤, 篠田 肇, 渡邊 力也

RIKEN CPR, °Tatsuya Iida, Jun Ando, Hajime Shinoda, Rikiya Watanabe

E-mail: tatsuya.iida.yf@riken.jp

新型コロナウイルスの世界的大流行を経験し、臨床現場即時検査 (POCT) への関心が高まり、迅速性と感度を両立した次世代の感染症診断法の開発が望まれている。そこで我々は、CRISPR-Cas13a の RNA 検出技術とマイクロチップによる 1 分子デジタル計測技術を融合した SATORI 法を開発してきた。SATORI 法では、検体をマイクロチップ上で数十 fL 以下の微小な試験管に分画して、ウイルス RNA の有無を Cas13a で判別し蛍光シグナルへと変換させ、蛍光を発する微小試験管を数えることでウイルス RNA を増幅させることなく迅速にその個数を定量できる (Fig. 1A)。このとき、Cas13a のガイド RNA の配列設計次第で、種々のウイルスや変異株にも対応できるため、幅広い臨床応用が期待されている。SATORI 法の社会実装を目指すには計測を自動化する必要がある、さらに、POCT への対応には装置の低コスト化・小型化も不可欠である。これまでに、顕微鏡と分注機を連動させた全自動計測装置 (opn-SATORI) の開発に成功しており、新型コロナウイルスのゲノム RNA を用いた検証では抗原検査のような迅速性 (~9 min/test) と PCR 検査と同等の感度 (6.5 aM; 3.9 cp/μL) の両立を達成し、同ウイルス感染症の臨床検体を用いた評価では RT-qPCR・ゲノム解析の検査結果と 98% の一致率で陽性陰性・変異株を判定できることを実証した<sup>1</sup>。

本研究では、POCT 対応に向けた顕微鏡代替イメージング装置 (COWFISH) の製作<sup>2</sup>やその小型化 (COWFISH 2) に取り組んだ (Fig. 1B)。装置の低コスト化・小型化の第一歩として、opn-SATORI 装置の中で最も高価で大型な共焦点顕微鏡を代替できるよう、一眼レフカメラとテレセントリックレンズを組み合わせた安価で小型なイメージング装置 COWFISH を製作した。価格・設置面積はそれぞれ共焦点顕微鏡の 1/30・1/7 に抑えつつ、RNA のデジタル検出では opn-SATORI 装置と同等の性能を維持し、加えて、顕微鏡で約 60 視野に分割する範囲を 1 度に撮像できるため計測時間を大幅に短縮した。COWFISH で実証したコンセプトはそのままに、各構成部品を再選定してカメラやレンズなどを小型なものに置き換え洗練化した COWFISH 2 の製作も進めており、価格・設置面積をそれぞれ 1/45・1/35 にまで削減することに成功した。今後は、COWFISH 2 をイメージングユニット化して分注機へ組み込むことで、安価で小型な全自動計測装置の完成を目指し、SATORI 法による様々なウイルス感染症の POCT 実現に向けた臨床応用に繋げていきたい。

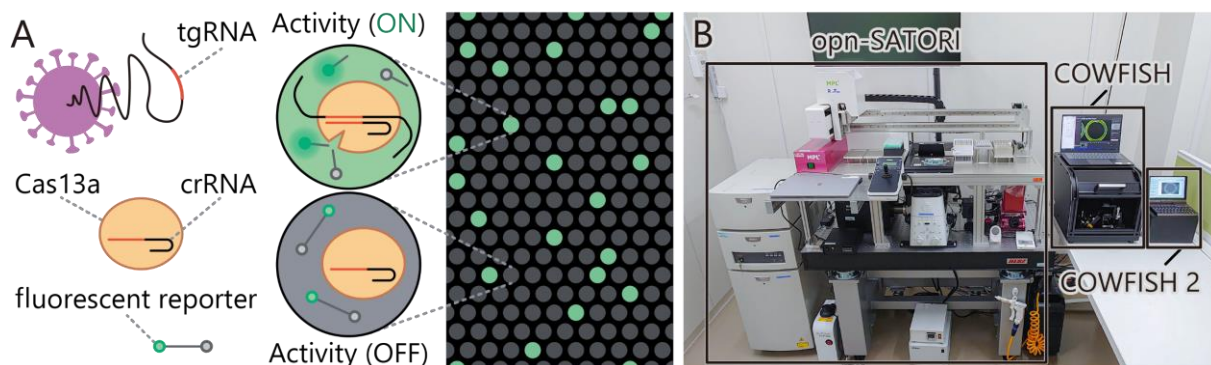


Fig. 1. (A) Schematics of SATORI. (B) Photographs of opn-SATORI, COWFISH and COWFISH 2.

Ref. (1) H. Shinoda, T. Iida, et. al., *Commun. Biol.*, **5**, 473, 2022. (2) T. Iida, J. Ando, et. al., *Lab Chip*, **23**, 684, 2023.

# タンパク質インプリントポリマーナノゲルを用いた高感度タンパク質検出

## Highly sensitive protein sensing by protein-imprinted polymer nanogels

神戸大院医<sup>1</sup>, 神戸大院工<sup>2</sup>, 神戸大産官学連携本部<sup>3</sup>, 産総研フォトバイオ OIL<sup>4</sup> °砂山 博文<sup>1</sup>,

Chehasan Cheubong<sup>2</sup>, 高野 恵里<sup>2</sup>, 竹内 俊文<sup>3,4</sup>

Grad. Sch. Med., Kobe Univ.<sup>1</sup>, Grad. Sch. Eng., Kobe Univ.<sup>2</sup>, Innov. Commercialization Div., Kobe

Univ.<sup>2</sup>, AIST-PhotoBioOIL<sup>4</sup>, °Hirobumi Sunayama<sup>1,2</sup>, Chehasan Cheubong<sup>2</sup>, Eri Takano<sup>2</sup>,

Toshifumi Takeuchi<sup>3,4</sup>

E-mail: sunayama@penguin.kobe-u.ac.jp, takeuchi@gold.kobe-u.ac.jp

タンパク質は精緻な分子認識により生体内恒常性の維持が達成されており、この分子認識能を利用した分析技術は医学・工学・農学と広範な分野で用いられている。特に抗体や酵素を利用したバイオセンサは高い親和性・選択性を有していることから汎用されている。バイオテクノロジー技術の発展により多様な標的に対する抗体の獲得技術が確立されているが、依然として抗体や酵素を得るには煩雑な操作が必要であり、試薬・分析機器も高価な傾向がある。これらは簡易・迅速な分析が必要な分野において障壁となっている。我々は比較的安価に大量生産可能な高分子材料に分子認識能を付与することができる、分子インプリンティングに着目し、人工高分子ベースの分子認識材料開発について研究を行ってきた[*Chromatography*, 2016, 37, 43]。本材料は高分子材料作製時に標的分子と相互作用可能な機能性モノマーと標的分子を混入させることで作製される。我々は本手法を独自に発展させ、この機能性モノマーの相互作用部位と重合官能基の間にジスルフィド結合等の修飾可能部位を組み込んでおくことで、材料作製後にこの修飾可能部位の反応性を利用して様々な機能を空間選択的に追加するポストインプリンティング修飾法(PIM)を確立した[*Chem. Commun.*, 2018, 54, 6243]。本研究では分子インプリンティングと PIM によるタンパク質蛍光センサを構築し、これを用いて近年イスラム教徒の増加に伴い問題となっている、食料品等に禁忌とされる豚由来成分の混入の検出について検討を行った。

豚由来成分のマーカーとしてブタ血清アルブミン(PSA)を標的に選択した。PIM 部位として 2 級アミノ基、相互作用部位として安息香酸部位を有する機能性モノマー 4-[2-(*N*-methacrylamido)ethylaminomethyl] benzoic acid (MABA)を設計・合成し、これとコモノマーと架橋剤を標的分子である PSA 存在下で無乳化剤沈殿重合(70 °C, 12 h)を行うことでポリマーナノゲル粒子を合成した。この粒子をサイズ排除クロマトグラフィーとイオン交換クロマトグラフィーで精製し、約 25 nm のナノゲル粒子を得た。この粒子に PIM として蛍光分子 ATTO647N NHS を反応させることで蛍光性の PSA インプリントナノゲル粒子を得た。この粒子のタンパク質認識特性を調べたところ PSA 濃度に依存した蛍光強度の変化が観察されたことから本ナノゲル粒子が PSA を吸着しその結合を蛍光変化として読み出せることが示唆された。本ナノゲル粒子のセンシング能について選択性及び模擬試料を用いた添加回収実験から検討を行ったので報告する。

# 色素結合法による人血清アルブミン測定における PEDOT:bromocresol purple 電気化学電極の評価

## Evaluation of PEDOT:bromocresol purple electrochemical electrodes for determination of human serum albumin by dye-binding interaction

東京大学<sup>1</sup> ○(P)Alex C. Tseng<sup>1</sup>, 坂田 利弥<sup>1</sup>

Univ. of Tokyo<sup>1</sup> ○(P)Alex C. Tseng<sup>1</sup>, Toshiya Sakata<sup>1</sup>

E-mail: sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

### 1. Introduction

Doping of PEDOT (poly(3,4-ethylenedioxythiophene)) with pH indicator dyes provides a simple way to introduce pH sensitivity into electrochemical biosensors. This is because PEDOT can mediate the redox cycling of the conjugated system found in both phthalein and azo dyes (e.g., bromothymol blue and methyl orange) [1]. Bromocresol purple (BCP) is an example of a phthalein dye that finds clinical use for serum albumin assay thanks to specific interactions with hydrophobic pockets in albumin proteins that produce a shift in the local pH around the dye [2]. Accordingly, under buffered conditions this dye-binding interaction is accompanied by a colour change (i.e., metachromasy) that enables facile quantitation by spectrophotometry.

To advance the development of point-of-care biosensors, we investigate whether the electrochemical sensitivity of PEDOT electrodes can be applied in conjunction with established dye-binding assay for human serum albumin (HSA). Such an approach would obviate the need for a spectrometer and optical routing, thus facilitating device miniaturization and ease of use. Moreover, fabrication via electro-polymerization affords high spatial resolution which can then be leveraged to develop arrayed electrodes with differential specificity, for instance, to quantify the modification degree of HSA (e.g., glycation) for more targeted assay in the future.

### 2. Experimental Methods

Electrochemical electrodes were prepared on Au rods ( $\phi$  3 mm; BAS Inc.) by galvanostatic deposition for 375 s at 0.10 mA/cm<sup>2</sup> (Keysight B1500A) with stirring from a polymerization solution containing 7 mM EDOT, 1 mM BCP (Fujifilm Wako), and 5 to 50 mM poly(styrene sulfonate) sodium salt (NaPSS; Alfa Aesar) in 0.1 M HClO<sub>4</sub> made up in de-ionized (DI) water. Prior to use, this solution was stirred and sparged with N<sub>2</sub> for 30 min to ensure complete dissolution of constituents and removal of O<sub>2</sub>. The Au surface was prepared by alumina polishing (0.05  $\mu$ m) and sonication in DI water for 1 min. All electrochemical measurements were taken vs. Ag/AgCl in saturated KCl and a Pt counter electrode using either ALS 618E or B1500A.

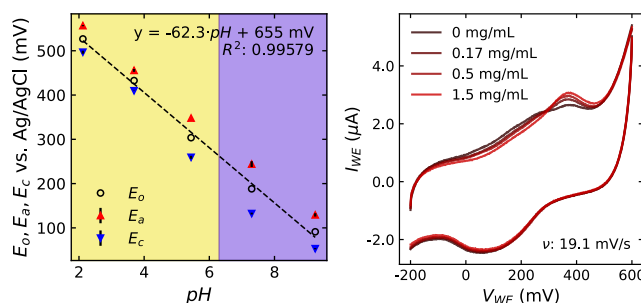


Fig. 1: (a) pH response of PEDOT:PSS:BCP extracted from redox peak potentials observed during CV at 20 mV/s in Britton-Robinson buffer, adjusted to 0.2 M ionic strength (N=3). Colour change from yellow to purple occurs at a pH near BCP pK<sub>a</sub> of 6.3. (b) Cyclic voltammograms of separate electrodes in protein-free 1x PBS after 20 min incubation in HSA solutions of indicated concentration in 1x PBS.

### 3. Results

Incorporation of BCP into PEDOT:PSS was confirmed by observing the pH response of BCP redox couple during cyclic voltammetry (CV), see Fig. 1a, with Nernstian sensitivity of 62 mV/pH, expected for a 2e<sup>-</sup>/2H<sup>+</sup> process [1] and peak separation increasing from 60 to 100 mV from low to physiological pH. For dye-binding, electrodes were incubated in HSA solutions in 1x phosphate buffered saline (PBS) for 20 min in ambient. Subsequently, CV in protein-free 1x PBS revealed changes in the oxidation wave with incubated HSA concentration (Fig.1b), with intermediate peaks shifting to anodic potentials (0.37 V) expected for BCP in low pH. Remarkably, this suggests that local pH shifts within the HSA-BCP complex behave expectedly, yet remain electrochemically accessible to the PEDOT electrode, which is promising for further development.

### References:

- [1] F. Mariani *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 10, no. 26, pp. 22474–22484, Jul. 2018.
- [2] S. Ito *et al.*, *Clinica Chimica Acta*, vol. 411, no. 3, pp. 294–295, Feb. 2010.

# ガス透過膜で被覆したグラフェンバイオセンサー

## Graphene Biosensor Coated with a Gas-Permeable Membrane

阪大産研<sup>1</sup>, 阪大 OTRI<sup>2</sup>, 村田製作所<sup>3</sup>, 香川大医<sup>4</sup>, 京府医大院医<sup>5</sup>,

静岡県大薬<sup>6</sup>, 阪大 CSRN<sup>7</sup>, 東北大 SRIS<sup>8</sup>



○小野 亮生<sup>1</sup>, 甘中 美帆<sup>1</sup>, 金井 康<sup>1,2</sup>, 宮川 成人<sup>3</sup>, 品川 歩<sup>3</sup>, 中北 慎一<sup>4</sup>, 渡邊 洋平<sup>5</sup>,  
牛場 翔太<sup>3</sup>, 谷 晋輔<sup>3</sup>, 鈴木 康夫<sup>6</sup>, 木村 雅彦<sup>3</sup>, 千葉 大地<sup>1,2,7,8</sup>, 松本 和彦<sup>1</sup>

SANKEN, Osaka Univ.<sup>1</sup>, OTRI, Osaka Univ.<sup>2</sup>, Murata Manufacturing Co., Ltd.<sup>3</sup>, Kagawa Univ.<sup>4</sup>,  
Kyoto Pref. Univ. Med.<sup>5</sup>, Univ. Shizuoka<sup>6</sup>, CSRN, Osaka Univ.<sup>7</sup>, SRIS, Tohoku Univ.<sup>8</sup>

○Takao Ono<sup>1</sup>, Miho Kannaka<sup>1</sup>, Yasushi Kanai<sup>1,2</sup>, Naruto Miyakawa<sup>3</sup>, Ayumi Shinagawa<sup>3</sup>,  
Shin-ichi Nakakita<sup>4</sup>, Yohei Watanabe<sup>5</sup>, Shota Ushiba<sup>3</sup>, Shinsuke Tani<sup>3</sup>, Yasuo Suzuki<sup>6</sup>,  
Masahiko Kimura<sup>3</sup>, Daichi Chiba<sup>1,2,7,8</sup>, and Kazuhiko Matsumoto<sup>1</sup>

E-mail: t-ono@sanken.osaka-u.ac.jp

炭素の単原子層薄膜であるグラフェンは、高比表面積かつ高移動度のため、極めて表面敏感であり、標的の接触を電氣的に高感度検出するバイオセンサーに最適の材料である。しかし、グラフェンの高感度特性は、たんぱく質などの夾雑物に対する脆弱性と表裏一体であり、標的への応答性を維持しつつ、夾雑物への応答を抑制しなければならないジレンマがある。

本研究では、水を通さず、かつガス透過性の高い poly(dimethylsiloxane) (PDMS)膜でグラフェンバイオセンサーを被覆した[1,2]。標的であるガス分子のみがグラフェン表面に到達する(Fig. 1)。これにより、溶液中の標的である NH<sub>3</sub> ガスへの応答性は維持された一方、夾雑物であるウシ血清アルブミン(BSA)への応答は約 1/1000 に抑制された(Fig. 2)。実質的に NH<sub>3</sub> のみが寄与する本センサーの応答は、溶液中の NH<sub>3</sub> 生成反応と、NH<sub>3</sub>(ドナー)の吸脱着に伴うグラフェンの抵抗率変化によってモデル化できる。我々は先に、グラフェンでの酵素反応計測による細菌の高感度検出法を提案してきた[3,4]。こうした酵素反応計測を本法と組み合わせることで、モデルに従って安定かつ高感度に動作する、実用的なグラフェンバイオセンサーを実現できる。

【謝辞】本研究は JST さきがけ(JPMJPR19G3)、未来社会創造事業(JPMJMI19D4)の支援を受けた。

[1] T. Ono *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* published online (2023). DOI: 10.35848/1347-4065/acda00

[2] 特願 2023-087903. [3] T. Ono *et al.*, *Nano Lett.* **19**, 4004-4009 (2019). [4] 特許第 6949397 号.

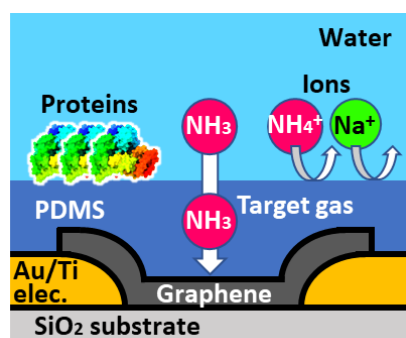


Fig. 1: Schematic image of the biosensor.

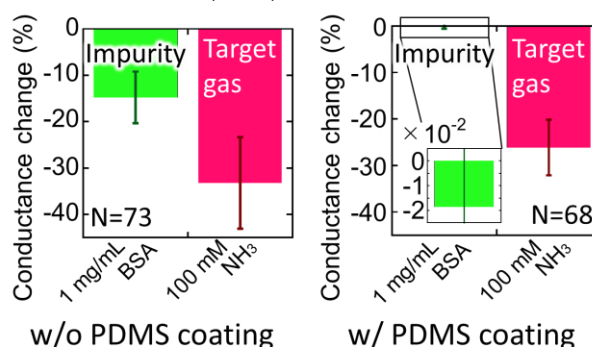


Fig. 2: Selective response by PDMS coating.

## グルコース変動と心拍変動の時系列相関分析による就寝中の自律神経活動の可視化

### Visualization of autonomic nervous system activity during sleep by time-series correlation analysis of glucose fluctuation and heart rate variability

東洋大<sup>1</sup>, 獺白寿生科学研究所<sup>2</sup> °加治佐 平<sup>1</sup>, 黒井 俊哉<sup>2</sup>, 原 浩之<sup>2</sup>

Toyo Univ.<sup>1</sup>, Hakuju Institute for Health Science Co., Ltd.<sup>2</sup>, °Taira Kajisa<sup>1</sup>, Toshiya Kuroi<sup>2</sup>

E-mail: kajisa@toyo.jp

【緒言】日々の睡眠は、健康を維持するためには必要であり、睡眠の質の低下は、睡眠障害から精神疾患、さらには糖尿病、心筋梗塞、脳卒中などの生活習慣病リスクが高まる可能性が示唆されている。その中でも、精神疾患の初期症状は、睡眠の質の低下からくることも示唆されており、実際に米国成人の3分の1が睡眠時間を7時間未満と回答し、5,000～7,000万人が睡眠障害を抱えているという報告もある。また、日中のストレスが睡眠の質に影響を与えるという報告や、PCやスマートフォンデバイスの使用が睡眠の質に与える影響について調査・研究した報告も多くある。以上のことから、日々の睡眠の質についてモニタリングし、正しく評価し、解析することは重要である。そこで、体内のグルコース上昇/下降は、糖質の経口摂取によるものの他に、ストレスホルモンによる肝グリコーゲンの分解(Glycogenolysis)によっても引き起こされるメカニズムに着目した。本研究においては、グルコース変動と心拍変動の時系列データを相互相関分析することで、自律神経活動をグルコース変動で評価する可能性について検討する。

【実験方法】20～40代の成人(男性2名、女性3名)の健常者を被験者として、経口摂取および運動による影響の少ない就寝中における、持続的グルコースモニタリング装置(CGM)を用いたグルコース変動と、心電計(Electrocardiograph, ECG)を用いた心拍変動(HRV)について、時系列データとして取得し、それぞれ時間ラグを考慮した相互相関分析を行った。

#### 【結果および考察】

健常者5名(n=25)の就寝中のHRVとグルコース変動の時系列データを取得し、お互いのデータについて、相互相関分析を行った結果、ストレス状態を示すHRVの周期と、グルコース変動は、相関係数 $r=-0.45$ と、中程度の負の相関を示すことが明らかとなった。また、HRVとグルコース変動の時間ラグは、<20分程度であった。このことから、自律神経活動に関わるストレス状態をグルコース変動で評価できる可能性が示唆された。講演では、睡眠工学的な議論から、さまざまなアスリートが緊張・興奮状態で示すグルコースデータについて述べる。

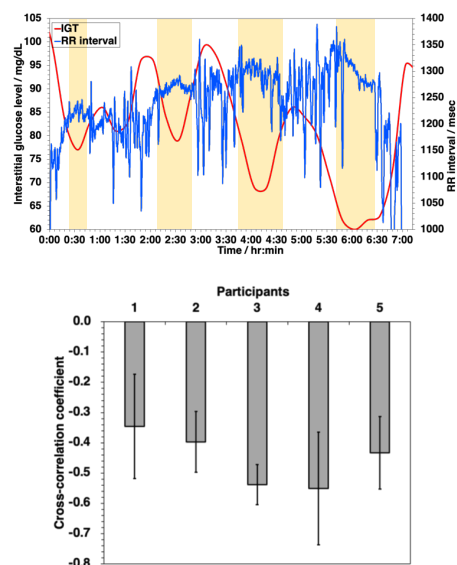


図 1: 就寝中の HRV とグルコースの時系列データ(上), 被験者の HRV とグルコースの相関係数(下)

## スマートフォンと無線給電を用いた 完全ワイヤレス電気化学発光バイオセンサー

**Fully wireless electrochemiluminescent biosensor using a smartphone  
and wireless power supply**

**産総研フォトバイオ OIL<sup>1</sup>, 阪大産研<sup>2</sup>, 民谷栄一<sup>1,2</sup> (P)大崎脩仁<sup>1</sup> 永井秀典<sup>1</sup>**

**AIST PhotoBio OIL<sup>1</sup>, Osaka Univ. SANKEN<sup>2</sup>, Eiichi Tamiya<sup>1,2</sup>, Shuto Osaki<sup>1</sup>,**

**Hiddenori Nagai<sup>1</sup>**

**E-mail: tamiya@ap.eng.osaka-u.ac.jp**

ワイヤレス電源と電気化学バイオセンサーを連携させることで、エネルギー供給とセンサーの応答取得を完全ワイヤレスで行うことができ、IoT ツールとしてのバイオセンサーを実現することができる。電磁誘導法では、電力を受ける電極チップに IC を搭載せず、単純な電位変調回路（量産型の安価な IoT センサーを想定）で電気化学発光を誘導する基本条件を検討した。特に、送電の伝送周波数に共振する容量成分や整流ダイオードを用いた回路で得られる電位波形を用いて、電極に電気化学発光反応が誘導されるかどうかを検討した。誘導電圧波形に対応した電気化学発光が得られ、電位誘導の最適条件が明らかになった。電磁誘導により電極チップに発生した発光を無線で検出するためには、スマートフォンに内蔵された高感度 CMOS カメラを活用することができ、特に市販の高感度かつ ISO : 51200 で 1000 万画素以上の高解像度を持つスマートフォン端末を用いて評価した。得られた画像は、画像解析ソフトを用いて定量的に評価（感度、測定範囲など）することができた。量産可能で安価な印刷電極にグルコースオキシダーゼや乳酸オキシダーゼなどの酸化酵素とルミノールを配置し、試験液を導入すると、酵素が電極上で反応し生成した過酸化水素とルミノールが発光する。このように、スマートフォンからのワイヤレス給電で電極チップに電気化学発光を起こさせ、スマートフォンのカメラで撮影した画像を診断する完全ワイヤレスバイオセンサーを開発できた。